

NEW POLYVINYL ACETATE ASSIMILATING BACTERIUM AND SOLUBILIZATION OF POLYVINYL ACETATE USING THE SAME

Publication number: JP9009957 (A)

Publication date: 1997-01-14

Inventor(s): OMORI TOSHIO; YOSHIDA KEISHIRO; SUZUKI YOSHIHISA; KUROSE TETSUO

Applicant(s): LOTTE CO LTD; NIPPON SYNTHETIC CHEM IND

Classification:

- international: **A23G4/00; C08F8/50; C08F18/00; C08F18/08; C12N1/20; C12R1/01; A23G4/00; C08F8/00; C08F18/00; C12N1/20; (IPC1-7): A23G3/30; C12N1/20; C08F8/50; C08F18/08; C12N1/20; C12R1/01**

- European:

Application number: JP19950186633 19950630

Priority number(s): JP19950186633 19950630

Abstract of JP 9009957 (A)

PURPOSE: To obtain the subject new bacterium as a bacterium belonging to the genus *Acinetobacter* capable of growing by using a polyvinyl acetate as a carbon source, excellent in polyvinyl acetate decomposing/removing workability and useful for removing chewed refuse of chewing gum, etc.

CONSTITUTION: This new polyvinyl acetate assimilating bacterium [e.g. *Acinetobacter* PVA3 strain (FERM P-14,984), etc.] is a bacterium belonging to the genus *Acinetobacter* capable of growing by using a polyvinyl acetate as a carbon source. Since the bacterium can hydrolyze a polyvinyl acetate and solubilize it into water, the bacterium is excellent in decomposing and removing a polyvinyl acetate and can readily remove chewed refuse of chewing gum. The new polyvinyl acetate assimilating bacterium is obtained by searching a bacterium capable of solubilizing a polyvinyl acetate into water, etc., and selecting a bacterium capable of growing by using a polyvinyl acetate as a carbon source from bacteria belonging to the genus *Acinetobacter* separated from soil.

.....
Data supplied from the **esp@cenet** database — Worldwide

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平9-9957

(43)公開日 平成9年(1997)1月14日

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 N 1/20		7804-4B	C 1 2 N 1/20	A
		7804-4B		F
C 0 8 F 8/50	M H Y		C 0 8 F 8/50	M H Y
18/08	M L E		18/08	M L E
// A 2 3 G 3/30			A 2 3 G 3/30	
審査請求 未請求 請求項の数4 F D (全 7 頁) 最終頁に続く				

(21)出願番号	特願平7-186633	(71)出願人	390002990 株式会社ロッテ 東京都新宿区西新宿3丁目20番1号
(22)出願日	平成7年(1995)6月30日	(71)出願人	000004101 日本合成化学工業株式会社 大阪府大阪市北区野崎町9番6号
		(72)発明者	大森 俊雄 東京都品川区八潮5-10-53-306
		(72)発明者	吉田 圭司郎 埼玉県浦和市沼影1-5-13
		(72)発明者	鈴木 義久 神奈川県川崎市川崎区川中島1-27-13
		(74)代理人	弁理士 浜田 治雄
		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 新規なポリ酢酸ビニル炭化細菌およびこれを用いたポリ酢酸ビニルの可溶化法

(57)【要約】

【目的】 新規なポリ酢酸ビニル炭化細菌およびこれを用いたポリ酢酸ビニルの可溶化法を提供する。

【構成】 ポリ酢酸ビニルを炭素源として生育する能力を有する *Acinetobacter* 属細菌であるポリ酢酸ビニル炭化細菌を、ポリ酢酸ビニルに適用して培養する。

【効果】 本発明ポリ酢酸ビニル炭化細菌は、ポリ酢酸ビニルを加水分解して水への可溶化を行うことができるので、ポリ酢酸ビニルの分解・除去作業性が優れており、チューインガムの噛み滓を容易に除去することができる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ポリ酢酸ビニルを炭素源として生育する能力を有する *Acinetobacter* 属細菌であることを特徴とするポリ酢酸ビニル資化細菌。

【請求項2】 *Acinetobacter* 属細菌が *Acinetobacter* 属PVA3株細菌である請求項1に記載の細菌。

【請求項3】 ポリ酢酸ビニルを炭素源として生育する能力を有する *Acinetobacter* 属細菌を、ポリ酢酸ビニルに適用して培養することを特徴とするポリ酢酸ビニルの可溶化方法。

【請求項4】 *Acinetobacter* 属細菌が *Acinetobacter* 属PVA3株細菌である請求項3に記載のポリ酢酸ビニルの可溶化方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、チューインガムの主成分であるポリ酢酸ビニルを分解する新規なポリ酢酸ビニル資化細菌およびこれを用いたポリ酢酸ビニルの水等への可溶化法に関する。

【0002】

【従来の技術】 従来、路面に付着したチューインガムの噛み滓を除去する方法としては、金属製のヘラでそぎ落とす方法が一般的に行われている。路面に付着したチューインガムは粘着性が強いので、通常そぎ落としを容易にするための洗浄剤が使用されているが、これは単にチューインガムの滑りを良くするためのもので、ガムベースであるポリ酢酸ビニルを化学的または生物学的に分解するような作用はない。このために、例えば洗浄剤を使用したとしてもチューインガム除去作業の能率が顕著に改善されることはなく、また限られた作業時間内にガムを完全に除去することも困難である。このようなチューインガム除去の困難性の大きな原因は、ガムベース成分の1つであるポリ酢酸ビニルが非水溶性であるため、洗浄剤の使用に馴染まないことによると考えられる。

【0003】 このためポリ酢酸ビニルに、これを化学的または生物学的に分解して水溶性物質に変換する作用を有する物質を、例えば洗浄剤に含有させて適用する方

法が求められているが、実用的な価値のあるそのような物質は殆ど見出されていないのが現状である。

【0004】 このようなものとして、これまでにある種のアスペルギルスおよびペニシリウム菌株がポリ酢酸ビニルを分解することが報告されている [Antonio Garcia Trejo (1988), Fungal degradation of polyvinyl acetate, Ecotoxicology and environmental safety (1988) vol. 16 pp. 25~35]。このものは確かにポリ酢酸ビニル分解能を有するが、分解物についての詳細は不明な土壌由来の微体であって細菌によるものではない。即ち、これまで細菌によるポリ酢酸ビニルの分解については報告がみられないのである。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】 本発明者等は、ポリ酢酸ビニルを水溶性のポリビニルアルコールおよび酢酸に分解するポリ酢酸ビニル資化細菌およびこれを用いたポリ酢酸ビニルの水等への可溶化法を得るべく鋭意研究の結果、土壌より分離した *Acinetobacter* 属細菌が、ポリ酢酸ビニルを炭素源として生育する能力を有することを見出し、本発明を完成させるに至った。

【0006】

【課題を解決するための手段】 本発明は、ポリ酢酸ビニルを炭素源として生育する能力を有する *Acinetobacter* 属細菌、特に *Acinetobacter* 属PVA3株細菌であることを特徴とするポリ酢酸ビニル資化細菌である。

【0007】 この *Acinetobacter* 属PVA3株細菌は、本発明者等が命名し、工業技術院生命工学工業技術研究所に平成7年6月13日に寄託されている (受託番号: FERM P-14984)。

【0008】 本菌株は、非運動性、好気性で非胞子形成性の短桿菌であるが、その具体的な形態学的・生理学的特徴を次の表1~4に示す。

【0009】

【表1】

表1 PVA3株の形態学的・生理学的特徴

コロニーの形態	: 乳白色～黄色の光沢ある円形の滑らかなコロニー
菌の形状	: 短桿菌
グラム染色	: 陰性
カタラーゼ活性	: 陽性
オキシダーゼ活性	: 陰性
O-12テスト	: 陰性
ゼラチン液化活性	: 陽性
セラース培地試験: 斜面の色	・・青
凝水付近の色	・・黄
高層の色	・・無変化
紫外線下の蛍光色	・・無変化
PIAでの生育	: 陰性

【0010】

【0011】

【表2】

【表3】

表2 PVA3株の糖質化性

基 質	生 育	基 質	生 育
マンノース	—	トレハロース	—
グルコース	+	ラクトース	—
キシロース	—	サッカロース	—
フルクトース	—	イノシトール	—
ガラクトース	—	マンニトール	—
アラビノース	—	ソルビトール	—

表3 PVA3株の有機酸・アルコール化性

基 質	生 育	基 質	生 育
乳酸	—	エタノール	+
酢酸	+	プロパノール	—
乳酸	+	ブタノール	—
コハク酸	+	2-ブタノール	—
クエン酸	+	ポリビニルアルコール	—
安息香酸	—	コール（重合度500）	—
p-ヒドロキシ安息香酸	+	ポリビニルアルコール（重合度1500）	—
		ポリビニルアルコール（重合度2000）	—

【0012】

【表4】

表4 PVA3株の各種酢酸エステル質化性

基 質	生 育	
	基質濃度 0.1%	基質濃度 0.5%
酢酸エチル	—	—
酢酸 n-プロピル	+	+
酢酸イソプロピル	—	—
酢酸 n-ブチル	+	+
酢酸イソブチル	+	+
酢酸 sec-ブチル	—	—
酢酸 tert-ブチル	—	—
酢酸シクロヘキシル	+	—
酢酸イソプロベニル	—	—
酢酸ベンジル	+	+
酢酸 β -ナフチル	—	—
酢酸 2-ジメチルアミノエチル	+	+
酢酸 β -クロロエチル	+	+

【0013】本菌株を、CFM培地に作成したポリ酢酸ビニルフィルムに接種し、適温、例えば30℃の温度で培養すると約36〜48時間でフィルムに穴が生じる。これは各種の酢酸エステル、特に酢酸ブチルを唯一の炭素源とした培地で生育試験を行った際の培養液のガスクロマトグラフィー分析の結果から推定して、ポリ酢酸ビニルが、本菌株の作用により加水分解されて水溶性のポリビニルアルコールと酢酸とを生成するためであると理解される。なお、勿論のことながら加水分解物は

ポリビニルアルコールと酢酸であるから、水に可溶化している。

【0014】本菌株の培養に使用するCFM培地の好適な組成例を表5に示すが、組成はこれに限られるものではなく、個々の成分の量の適宜増減、類似の他成分との代替使用、あるいはこれに他の成分、例えば寒天等を添加して使用することが可能である。

【0015】

【表5】

表5 CFM培地の組成

Na_2HPO_4	・・・2.2g
KH_2PO_4	・・・0.8g
NH_4NO_3	・・・3.0g
$\text{MgSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	・・・0.2g
$\text{FeSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	・・・10mg
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	・・・10mg
Deionized water	1L

寒天培地とする場合はこの培地に16g/Lの割合で寒天を添加する。

【0016】このように本菌株はポリ酢酸ビニルを炭素源として生育するが、ポリ酢酸ビニルに限らず、他の各種の酢酸エステル、例えば酢酸プロピル、酢酸ブチル、酢酸イソブチルを唯一の炭素源とした培地でも比較的良好的な生育をし、これらを加水分解して酢酸とアルコールを生成することが確認されている。また、本菌株はポリ酢酸ビニルを始めとする酢酸エステル類に限らず、例え

ばグルコース等の炭素源を質化することも確認されている。

【0017】以上、明らかにしたようなことから、本発明ポリ酢酸ビニル産化細菌の用途として、例えば路面に付着したチューインガムの職み滓を除去する際に使用する洗浄剤に含有させたり、あるいは本菌の培養除菌液、本菌由来の酵素を洗浄剤に含有させて使用する方法が学

げられる。

【0018】以下、本発明の試験例、実施例および参考例を挙げて説明する。

【0019】

【実施例】

試験例1

本発明にかかるAcinetobacter属PVA3株細菌の形態学的・生理学的性質を、以下の方法により試験した。

【0020】コロニーの形態：市販の普通寒天培地にPVA3株をプレATINGし、30℃の温度で一晩培養した後、形成されたコロニーを観察した。

【0021】菌の形状：グラム染色した後、光学顕微鏡にて観察した。

【0022】グラム染色：「フェイバー・Gセット」(ニッスイ)を用い、説明書に従って行った。

【0023】オキシダーゼ活性：「チトクローム・オキシダーゼ試験用濾紙」(ニッスイ)を用いた。

【0024】カタラーゼ活性：つま楊子の先に少量の菌体を取り、3%の過酸化水素水につけて発泡の有無を見た。

【0025】O-Fテスト：「O-F培地」(栄研)を用いた。

【0026】ゼラチン液化活性：「ゼラチン培地」(ニッスイ)を用いた。

【0027】セラーズ培地試験：「Sellers Differential Agar」(ニッスイ)を用いた。

【0028】PIAでの生育：「Pseudomonas Isolation Agar」(Difco)を用いてプレートを作成し、PVA3株を接種して30℃の温度での生育を見た。

【0029】糖・有機酸：アルコール・エステル資化性試験：普通寒天培地にPVA3株を接種し、30℃で18時間培養し、生育した菌体を1白金耳取り、CFM培地（組成は表5に示す）5mlに懸濁させる。各種の糖・有機酸を0.5%（w/v）、アルコールを0.5%（v/v）、エステルを0.1%（v/v）および0.5%（v/v）の各濃度でオートクレーブしたCFM培地10mlに加え、これに懸濁液を100μl加え、30℃で振盪培養し、培養液の濁度から資化性を判断した。

【0030】試験の結果は前記表1~4に示した通りであった。

ガスクロマトグラフィーの条件

カラム：Gaskuropack54（φ2mm×2m）

温度：インジェクション200℃

カラム 230℃

検出器 250℃

流速：N₂ 50ml/min

【0031】実施例1

ガムベース原料に使用されているポリ酢酸ビニル（M.W.19000）を15%（w/v）酢酸エチル溶液とした。滅菌シャーレを用いて作成したCFM寒天プレート上にこの溶液を1ml加え、薄く広げ、室温で乾燥させてフィルムとなるようにした。普通寒天培地（栄研）で培養したPVA3株の菌体を滅菌したつま楊子の先端に少量取り、ポリ酢酸ビニルフィルムプレートに接種した。30℃で培養し、48時間後にフィルムに穴が生じていることを確認した（図1添付写真参照）。対照として大腸菌を接種した場合も行ったが、穴は生じなかった。

【0032】実施例2

市販のポリ酢酸ビニル（aldrich製、M.W.194800）を用いて実施例1と同様にフィルムを作成し、PVA3株を接種して48時間後にフィルムに生じる穴を確認した。

【0033】実施例3

市販のポリ酢酸ビニル（aldrich製、M.W.237000）を用いて実施例1と同様にフィルムを作成し、PVA3株を接種して48時間後にフィルムに生じる穴を確認した。

【0034】実施例4

市販のポリ酢酸ビニル（aldrich製、M.W.124800）を用いて実施例1と同様にフィルムを作成し、PVA3株を接種して48時間後にフィルムに生じる穴を確認した。

【0035】参考例1

PVA3株培養液中の酢酸ブチル加水分解物を、下記方法によりガスクロマトグラフィー分析に供した。なお、加水分解を酢酸ビニルでなく酢酸ブチルで実施したのは、酢酸ビニルを重合してポリ酢酸ビニルにすると二重結合が単結合に変化するため、これに近似する構造の酢酸ブチルを対象とするのが実際的であるとの判断による。

【0036】0.1%の容量比で酢酸ブチルを添加したCFM培地5mlに、予め普通寒天培地で培養しておいたPVA3株を1白金耳接種し、30℃で一晩振盪し前培養した。この培養液1mlを前培養と同様の組成の培地100mlに添加し、30℃で振盪培養した。培養後、0.5、1.0時間目に培養液を2mlずつ採取した。採取した培養液から遠心により菌体を除き、上澄みをガスクロマトグラフィーに供した。

【0037】

結果を図2に示す。培養時間の経過により、酢酸ブチルが分解されて酢酸とブタノールを生成し、次いで生成した酢酸はPVA3株菌に摂取されて消失し、そしてブタノールは酢酸に変換することが明らかである。

【0038】

【発明の効果】本発明ポリ酢酸ビニル資化細菌は、ポリ酢酸ビニルを炭素源として生育し、これを加水分解して水等への可溶化を行う。また、本発明ポリ酢酸ビニル資化細菌が培養された後の除菌液には溶媒臭などの不快臭がないので、ポリ酢酸ビニルの分解・除去作業性が優れ

ている。

【図面の簡単な説明】

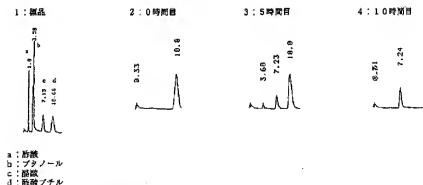
【図1】本発明ポリ酢酸ビニル資化細菌 (*Acinetobacter* 属PVA3株細菌) のポリ酢酸ビニルフィルムに対する可溶化効果を示す写真である。

【図2】本発明ポリ酢酸ビニル資化細菌 (*Acinetobacter* 属PVA3株細菌) 培養液中の酢酸エステル加水分解物のガスクロマトグラフィー分析の結果を示す特性線図である。

【図1】



【図2】



フロントページの続き

(51)Int. Cl.⁶

(C 1 2 N 1/20

C 1 2 R 1:01)

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

(72)発明者 黒瀬 哲男

大阪府茨木市室山 2-13-1 日本化成化

学工業株式会社中央研究所内